

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2005 年 2 月 17 日 (17.02.2005)

PCT

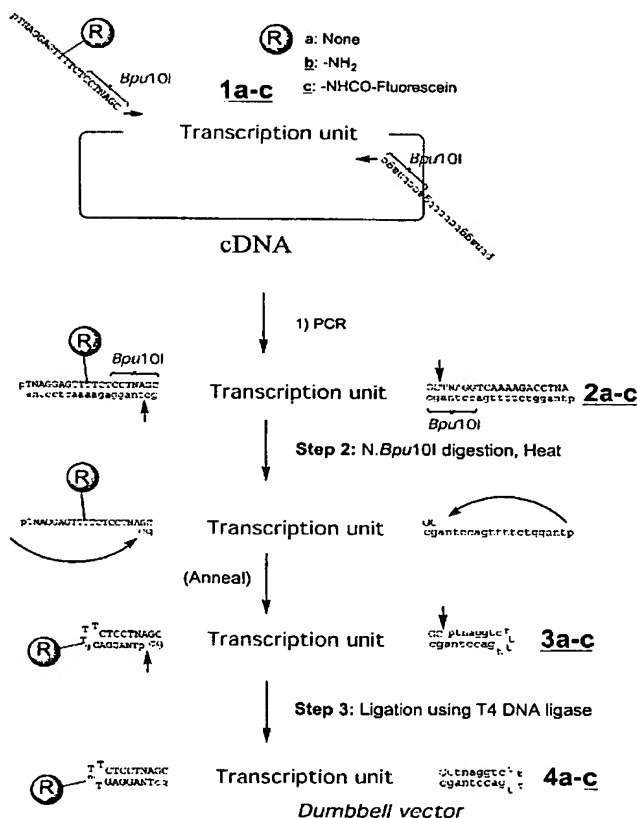
(10) 国際公開番号  
WO 2005/014810 A1

- (51) 国際特許分類: C12N 15/10, TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒1008921 東京都千代田区霞が関一丁目 3 番 1 号 Tokyo (JP).  
15/11, A61K 31/711, 31/713
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/011449 (71) 出願人 および  
(72) 発明者: 高木 康臣 (TAKAGI, Yasuomi) [JP/JP]; 〒2770858 千葉県柏市豊上町 2 3-8 Chiba (JP).
- (22) 国際出願日: 2004 年 8 月 9 日 (09.08.2004)
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 多比良 和誠 (TAIRA, Kazunari) [JP/JP]; 〒3058562 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 4 独立行政法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP). 瀧 真清 (TAKI, Masumi) [JP/JP]; 〒3058562 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 4 独立行政法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP). 加藤 義雄 (KATO, Yoshio) [JP/JP]; 〒3058562 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 4 独立行政法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP). 宮岸 真 (MIYAGISHI, Makoto) [JP/JP];
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願2003-206905 2003 年 8 月 8 日 (08.08.2003) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人産業技術総合研究所 (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND

[続葉有]

(54) Title: EFFICIENT PROCESS FOR PRODUCING DUMBBELL DNA

(54) 発明の名称: ダンベル型 DNA の効率的な製造方法



(57) Abstract: A simple process for producing a dumbbell DNA. Target DNA sequence is amplified in accordance with a nucleic acid amplification technique using two primers containing a portion of sense sequence of nick recognition sequence of nickase, a sequence capable of forming a loop structure from a single strand and the entirety of antisense sequence of nick recognition sequence of nickase. The amplified DNA is nicked in the presence of nickase and annealed so as to form a loop, and further a DNA ligase is caused to act thereon so as to carry out an intramolecular ligation reaction. A dumbbell DNA is formed through the above sequence of operations when the 5' -end of the two primers is phosphated or when the amplified DNA is phosphated.

[続葉有]

WO 2005/014810 A1



〒3058562 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 4 独立  
行政法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP).

(74) 代理人: 間山 世津子, 外(MAYAMA, Setsuko et al.);  
〒2210835 神奈川県横浜市神奈川区鶴屋町 3 丁目  
30 番の 1 農機舎 4 階 Kanagawa (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が  
可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR,  
BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,  
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,  
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,  
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA,  
NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE,  
SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,  
UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可  
能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD,  
SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY,  
KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,  
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE,  
IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF,  
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,  
TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告書
- 電子形式により別個に公開された明細書の配列表部  
分、請求に基づき国際事務局から入手可能

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される  
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語  
のガイダンスノート」を参照。

#### (57) 要約:

ダンベル型 DNA を製造するための簡易な方法を提供する。

ニック酵素の切断認識配列のセンス配列の一部、一本鎖でループ構  
造を形成することができる配列及びニック酵素の切断認識配列のアン  
チセンス配列の全部を含む 2 本のプライマーを用いた核酸増幅法によ  
り目的の DNA 配列を増幅し、増幅された DNA にニック酵素で切れ  
目を入れた後、アニーリングすることによりループを形成させ、さら  
に、DNA リガーゼを作用させて分子内ライゲーション反応を行う。  
2 本のプライマーの 5' 末端をリン酸化しておくか、増幅された DNA  
をリン酸化しておけば、上記の一連の操作により、ダンベル型 DNA  
が生成する。